

GRANULASI LUMPUR BIOGAS ANAEROBIK

Djoko Padmono dan Joko Prayitno Susanto

Pusat Teknologi Lingkungan
Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi

Abstract

This article contained several differences of the theory about anaerobic sludge granulation biogas in the UASB reactor. The level of the granulation formation of the beginning followed same principles as the formation bio-film from the bacteria to a surface field. There exist strong facts that the material inert played a positive role important and granulation. Most researchers took the conclusion that *Methanosaeta concilii* was the main key to the formation of granulation. Only Town Stamp hypothesises that assumed that the organism autotrophic hydrogenotrophic like for example *Methanobacterium* from strain AZ, could grow in the condition high H₂-pressure, was the key to the formation organism of granulation. Several writers focus in the stage granulation early and only several contributions that discussed the following stage in granulation included maturation granulation and multiplication. Determining factors granular in the latter stage was dominated in the existence of the manipulation of the pressure election, through which particle of bigger sludge selectively was kept in the UASB reactor.

Keywords: Granulation; UASB; Anaerobic treatment.

I. PENDAHULUAN.

1.1 Latar Belakang

Pembentukan lumpur granular anaerobik biogas (gambar 1) dapat dipandang sebagai alasan utama keberhasilan pengenalan konsep reaktor biogas *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB) untuk mengolah keluaran (*output*) nonproduk industri permen dan keripik yang diolah dengan teknologi fermentasi anaerobik. Proses granulasi ini memungkinkan laju pembebanan reaktor UASB jauh lebih tinggi dibandingkan dengan laju pembebanan pada umumnya yang digunakan dalam proses-proses *activated sludge* konvensional.

Lumpur granular telah ditemukan pada 1976 di dalam suatu pilot plant 6 m³ pada pabrik gula CSM di Breda - Belanda.^[1] Pentingnya granulasi merupakan apresiasi yang perlu diperhatikan, diindikasikan juga bahwa sedikit pemahaman pada proses granulasi muncul pada saat itu dan sangat perlu dilakukan kajian lebih lanjut.

Lebih dari 25 tahun kemudian, beberapa peneliti dari seluruh dunia telah melakukan kajian proses granulasi. Walaupun demikian, tetap belum ada konsensus tentang penetapan mekanisme pemicu (*trigger*) granulasi. Dalam proses granulasi, peran organisme *Methanosaeta concilii* atau sering disebut juga sebagai bentuk sinonimnya, yaitu *Methanothrix*

soehngeni, memegang kunci utama granulasi lumpur anaerobik ini. Walaupun nama ini kemudian dipandang tidak memiliki legitimasi, sebab isolasi organisme ini tidak murni^[3, 4]. Dalam penulisan ini selanjutnya digunakan *Methanothrix soehngeni* dengan pertimbangan bahwa dalam kenyataannya *Methanothrix soehngeni* banyak digunakan.

1.2 Tinjauan Pustaka

Sebagai dasar teori granulasi lumpur anaerobik, dalam tulisan ini diuraikan dua pendekatan, yaitu pendekatan fisik dan mikrobiologi yang dipandang sebagai faktor-faktor utama yang sangat menentukan terhadap pembentukan granul.

1.2.1 Pendekatan fisik

Pada pendekatan fisik ini dijelaskan faktor-faktor yang sangat berpengaruh terhadap pembentukan granulasi. Faktor-faktor ini meliputi : pemilihan tekanan (laju alir), dan pertumbuhan koloni padatan tersuspensi.

a. Pemilihan tekanan (Laju Alir).

Proses granulasi reaktor UASB adalah pemilihan partikel-partikel lumpur yang terjadi dalam reaktor terhadap tekanan laju alir.^[5] Pemilihan tekanan (laju alir) dapat di pandang sebagai penjumlahan laju pembebanan hidraulik (pencatutan dan resikulasi) dan laju pembetulan gas. Kedua faktor tersebut penting dalam pemilihan antara komponen-komponen lumpur dengan karakteristik pengendapan yang berbeda. Pada kondisi laju alir tinggi, lumpur ringan dan tersebar akan terbang keluar (*washed out*) sementara komponen yang lebih berat dapat tertahan dalam reaktor, sehingga pertumbuhan lumpur tersebut harus diminimisasikan, dan pertumbuhan bakteri di tergantung pada jumlah terbatas nuklei tumbuh, yang dapat terdiri dari bahan organik dan inorganik inert atau agregat bakteri kecil yang ada dalam lumpur semai^[6]. Nuklei tumbuh ini bertambah berdasarkan

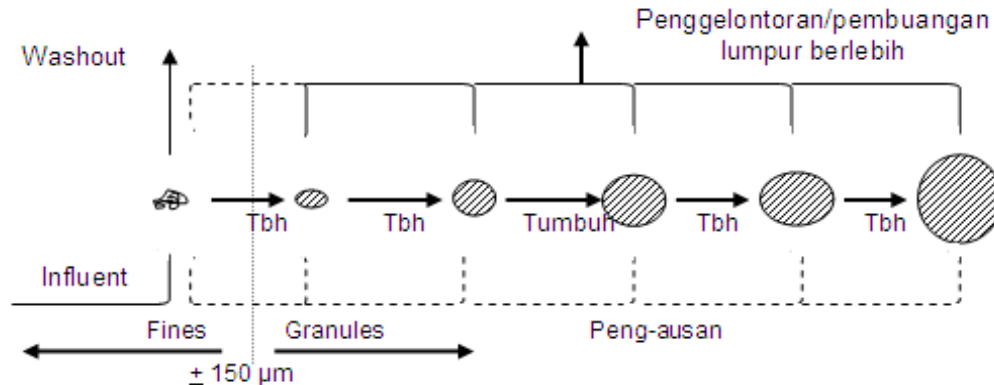
pertambahan ukurannya hingga mencapai ukuran maksimum tertentu, dan setelah bagian dari granul terpisah/tertanggal maka dihasilkan generasi baru nuklei tumbuh dan seterusnya.

Pada kondisi tekanan (laju alir) rendah, pertumbuhan akan mengambil peran terutama sebagai biomasa tersebar, yang memberikan kenaikan pembentukan suatu jenis *bulk* dari lumpur. Dalam reaktor anaerobik, organisme dominan *Methanothrix* terbentuk dari filament yang sangat panjang (200 – 300 μ m). Bila organisme ini tumbuh tanpa penempelan (*attachment*) pada suatu partikel padat penunjang, maka suatu filamen berstruktur longgar jalin-menjalin (*loosely intertwined structure*) dengan karakteristik endap yang sangat buruk akan terbentuk. Kemudian dengan adanya gelembung gas yang melekat pada filamen berstruktur ini, mengakibatkan lumpur cenderung mengapung dan terbang.^[6]

b. Pertumbuhan koloni padatan tersuspensi.

Pereboom^[7] menyatakan bahwa pembentukan granul dimulai dari butiran halus yang terbentuk melalui kolonisasi suspendid solid dari influen (Gambar 2.), dan akan meningkat melalui pertumbuhannya. Proses terpenting terjadinya pembatasan maksimum ukuran granul dalam operasi normal adalah pembuangan reguler kelebihan biomasa. Turbulensi reaktor dan produksi gas internal yang terjadi menjadi tidak mempengaruhi pada distribusi ukuran.

Gaya gesekan yang terjadi tidak akan memecah atau disintegrasi granul dan hanya menyebabkan pengikisan partikel kecil dari granul. Hal yang kemudian tidak di harapkan adalah perlunya untuk membuang granul besar. Distribusi ukuran granul dalam reaktor UASB terlihat sebagai hasil pertumbuhan partikel kecil menjadi granul-granul (Gambar 2). Lebih lanjut, limbah cair dengan konsentrasi suspendid



Gambar 2. Model Distribusi Ukuran Granul Metanogenik^[7].

solid tinggi dihasilkan dalam distribusi ukuran pendek sementara sedikit atau tanpa suspended solid dalam influen menghasilkan distribusi ukuran yang luas.

1.2.2 Teori Pendekatan ekologis

Pada pendekatan ekologis ini dijelaskan beberapa teori yang sangat berpengaruh terhadap pemahaman mekanisme pertumbuhan granul, yaitu perikatan mikroflok oleh filament *Methanothrix*, pertumbuhan filament *Methanothrix*, dan jenis granul pendegradasi Volatile Fatic Acid (VFA).

- a. Perikatan mikroflok oleh filament *Methanothrix*.

Dari pengujian mikroskopik dan pengukuran aktivitas, Dubourgier et al. ^[8] menduga bahwa mekanisme granulasi dimulai oleh menggumpalnya filament-filamen *methanothrix* oleh koloni-koloni *cocci* atau *rod* (bakteri asidogenik) membentuk mikroflok 10 – 50 μ m. Berikutnya, filament *Methanothrix* karena morfologi partikularnya dan sifat permukaannya memantapkan perikatan antara beberapa mikroflok membentuk granul lebih besar (> 200 μ m). Pengembangan selanjutnya dari bakteri asidogenik dan sintropik mendukung pembentukan granul.

- b. Pertumbuhan filament *Methanothrix*.

Morgan et al.^[9,10] menduga bahwa salah satu mekanisme pertumbuhan granul anaerobik didasarkan pada pertumbuhan filament *Methanothrix* yang telah diamati dari hasil pengujian granul yang terdapat pada pengolahan efluen *sugar refinery*. Dalam teori ini, perkembangan granul diawali dari agregat-agregat kecil *Methanothrix* dan bakteri lain. Pertumbuhan filament *Methanothrix* yang mempunyai karakteristik ikatan dipisahkan oleh matrik disekitarnya dimana bakteri methanogenik dan non-methanogenik lain tertanam. Pertambahan ukuran ikatan matrik disekitar granul yang terdiri dari eksklusif filament kompak dari *Methanothrix* dikeluarkan dari pusat granul.

- c. Jenis Granul Pendegradasi VFA.

Menurut De Zeeuw ^[11], terdapat dua genus bakteri dianggap sebagai dominan (utama) dalam pembentukan granul, yaitu *Methanitrix* dan *Methanosarcina*. Hal ini didasarkan pada hasil penelitiannya terhadap pembentukan granul dikembangkan dalam eksperimen *start-up* laboratorium reaktor UASB dari lumpur tercerna sebagai bahan pembibitan dan VFA sebagai substrat. Adapun karakteristik bentuk granul ini adalah sebagai berikut:

1. Granul sferikal kompak, terutama dikomposisi dari bakteri bentuk-rod

terakit *Methanothrix soehngeni* dalam rantai pendek atau sel tunggal (*rodgranules*).

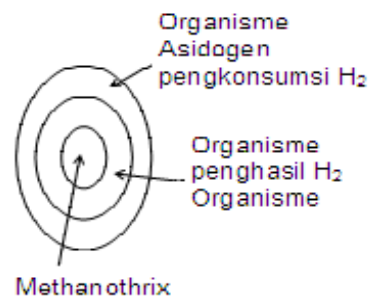
2. Granul agak-agak sperikal terutama terdiri dari ikatan benang longgar (*loosly intertwined*) bakteri *filamentous* yang melekat pada partikel inert (*granul filamentus*).
3. Granul sperikal kompak dikomposisi terutama oleh jenis bakteri-*Methanosarcina*.

Granul *Methanothrix* yang lebih kompak (rod Granules, jenis 1) diperkirakan terbentuk oleh kolonisasi dari pusat celah *Methanosarcina* menggumpal (*clumps*) oleh bakteri *Methanothrix*, yang memiliki afinitas (daya gabung) asetat lebih tinggi yang biasanya cenderung terlepas dilapisan terluar *methanothrix*. Penjelasan lain, untuk jenis-rod ini granul dapat diisi granul filamentus dengan bakteri lebih menjadikan suatu granul *Methanothrix* yang lebih kompak.

Lebih lanjut, pembentukan granul 1 atau 2 dikaitkan dengan waktu retensi rata-rata biomasa dalam proses *start-up* dapat diterangkan sebagai berikut. Bila rata-rata waktu retensi biomasa terlalu pendek, granul bakteri kompak hanya berisi bakteri-bakteri yang tidak berubah. Ini berarti bahwa konglomerasi besar bakteri hanya dapat dibentuk melalui pelekatan pada partikel inert, yang cukup berat untuk dapat tetap tinggal lama dalam reaktor (jenis 2). Selanjutnya apabila rata-rata waktu tinggal biomasa cukup lama, granul bakteri kompak (jenis 1) dapat dibentuk.

McLeod et al. ^[12], bekerja dengan menggunakan reaktor hibrid filter UASB, mengusulkan suatu hipotesa dimana fungsi agregat *Methanothrix* sebagai pusat nukleasi yang mengawali pengembangan granul (Gambar 3.) dari granul pendegradasi sukrosa. Bakteri penghasil asetat, termasuk asetogen penghasil H_2 kemudian melekat pada kerangka ini, melengkapi substrat untuk *Methanothrix* dan bersama dengan

organisme pengonsumsi H_2 membentuk suatu lapisan kedua mengelilingi inti *methanotrix*. Secara berurutan bakteri fermentatif melekat pada agregat kecil membentuk lapis luar dari granul, dimana mereka bersentuhan dengan substrat yang ada dalam larutan bulki. Hasil dari bakteri fermentatif kemudian berfungsi sebagai substrat untuk pelapisan asetogen berikutnya. Lebih lanjut, organisme yang suka-metanogen juga ditemukan dalam lapisan luar mengarahkan pada ide bahwa organisme pengonsumsi H_2 ini dapat mengonsumsi setiap H_2 bebas, sebagai penghindaran difusinya kedalam lapisan kedua, dimana organisme pengonsumsi H_2 lain yang akan mampu mengurangi sisa H_2 yang dihasilkan oleh asetogen.



Gambar 3. Komposisi granul yang dihasilkan

Fang ^[13] juga menyatakan bahwa granul tidak dikembangkan oleh agregasi random dari bakteri suspended, tetapi oleh posisi yang strategis bakteri untuk mencatu substrat dan untuk membuang produk sebagaimana pelapisan mikrostruktur dari granul tertentu yang diduga. Sekali inti terbentuk, bakteri mulai berkembang biak (*proliferate*) mengarah suatu pertumbuhan ukuran granul yang hanya berhenti bila area antar-muka antara bakteri dan campuran cairan berkurang hingga suatu tingkat kritis terkait dengan hidrolisis atau fermentasi awal yang terjadi pada permukaan granul.

Berikutnya Ahn ^[14] mengusulkan suatu model granulasi sebagaimana disampaikan dalam Tabel 1. Pada tingkat

Penampilan	Tingkat	Diameter	Pendekatan kondisi P_{H_2} (log P_{H_2} atm)
	1. Pertumbuhan filamen (asetiklastik) meta-nogen dan mikroorganisme lain dalam kondisi tekanan parsial hidrogen rendah	Filemen	Rendah (≈ -6)
	2. Efek-efek bridging dan rolling pada pertumbuhan filamen metanogen	$< 100 \mu m$	↓
	3. Pertumbuhan konglomerat kecil sebagai suatu inti lepas, asetogen sintrophik kacau disekitar permukaan inti	$< 1 mm$	
	4. Pertumbuhan granul kecil dengan inti padat; hidronotrop dan asidogen sintrophik kacau disekitar permukaan granul kecil	1 – 2 mm	
	5. Pertumbuhan granul besar dengan struktur lapisan-ganda, disebabkan akumulasi ekstraselular polimer oleh hidronotrop	2 – 5 mm	Tinggi ($-2,7 \sim -3,7$)

Gambar 4. Konsep UASB Reaktor

awal granulasi methanogen-methanogen asetiklastik (filamentus) dan organisme lain tumbuh tersebar dalam medium. Melalui pengaruh *bridging* dan *rolling* diakibatkan oleh perilaku hidrodinamika UASB, konglomerasi lepas kecil utamanya disusun oleh methanogen filamentus biasanya terbentuk. Lebih lanjut asetigen melekat pada konglomerasi, dalam hubungan sintropik dengan methanogen asetiklastik, sehingga pembentukan suatu granul kecil yang padat ditengahnya. Karena ukuran

granul yang kecil dan karena adanya pengeluaran (ekskresi) polimer ekstraselular oleh hidrogenotrop, memungkinkan granul tumbuh.

1.3 Tujuan Penelitian :

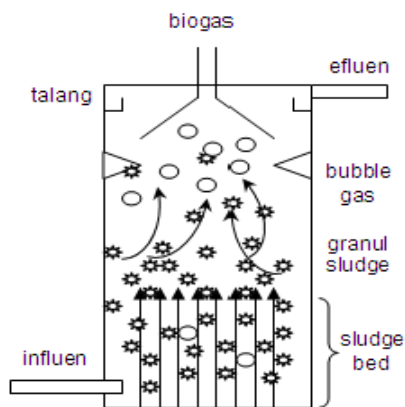
Penelitian ini dimaksudkan untuk mempelajari kinerja reaktor Upflow Anaerobic Sludge Blanket serta memahami proses pembentukan granular yang terjadi didalam reaktor tersebut.

2. METODOLOGI

Reaktor yang digunakan pada penelitian ini adalah *Reaktor Up Flow Sludge Blanket* (UASB) dengan volume 775 m³ dan volume kerja 675 m³ untuk mengolah keluaran bukan produk dari industri permen dan keripik.

2.1 Reaktor UASB

Teknologi anaerobik sludge granular merujuk pada konsep reaktor khusus untuk pengolahan limbah anaerobik dengan “laju tinggi”. Konsep ini sebagai awal reaktor anaerobik selimut lumpur aliran keatas



Gambar 4. Konsep UASB Reaktor

(*Upflow Anaerobic Sludge Blanket* - UASB). Skema UASB diperlihatkan dalam Gambar 4 di bawah.

Dari perspektif perangkat keras, reaktor UASB pada awalnya berupa tangki kosong (dengan bentuk yang teramat sederhana dan murah), dengan prinsip kerja sebagai berikut : Limbah cair dimasukkan ke dalam tangki dari arah bawah reaktor dan kemudian limbah cair tersebut mengalir ke atas melewati lumpur *bed anaerobik* di mana mikro-organisme dalam lumpur akan kontak dengan substrat limbah cair. Disisi lain, *Sludge bed* yang terdiri dari mikro-organisme yang tumbuh secara alami dalam bentuk granul diameter 0.5 sampai 2 mm mempunyai kecepatan pengendapan tinggi sehingga dapat melawan terjadinya *wash out* dari sistem pada beban hidrolik yang tinggi.

Proses degradasi anaerobik akan menghasilkan gas (termasuk Biogas berisi CH_4 dan CO_2), dan gerakan gelembung gas yang dilepaskan ke atas menyebabkan pergolakan hidrolik sehingga reaktor membaur secara alami tanpa menggunakan mesin pengaduk. Di bagian atas reaktor, terjadi pemisahan dari padatan, cair dan gas oleh tiga-tahap alat pemisah (juga dikenal pemisah gas-cair-padat).

2.1 Operasi reaktor

Dalam penelitian ini digunakan lumpur yang diambil dari kotoran sapi cair. Parameter-parameter substrat yang dianalisa secara reguler adalah COD_t , COD_p , pH, keasaman.

a. Preparasi catu

Substrat diencerkan hingga konsentrasi COD mencapai 2000 – 3000 mg/l. Kemudian di netralkan dengan NaOH hingga pH 7,2. Urea dan KH_2PO_4 ditambahkan sebagai nutrisi. Rasio COD : N : P dijaga 300 : 5 : 1 selama periode start up. pH dijaga pada 7,2 selama masa start up setiap 6 – 8 jam.

b. Kecepatan up flow

Dalam penelitian ini kecepatan *up flow* awal dimulai sekitar 0,03 m/jam yang dipertahankan sampai hari ke 12, selanjutnya kecepatan dinaikan menjadi 0,06 m/jam selama satu bulan yang ditingkatkan kembali hingga laju total tetap sama 0.12 m/jam hingga hari ke 42 atau sampai dilakukan resirkulasi.

2.2 Pertumbuhan bakteri.

Inokulasi ditumbuhkan dari limbah cair kotoran sapi dengan jumlah sepertiga volume reaktor. Indikasi pertumbuhan bakteri anaerobik dengan menggunakan balon penampung gas. Inokulasi dinyatakan sempurna pada kondisi hasil gas mengandung 60 % CH_4 . kondisi ini menunjukkan reaktor siap diberikan umpan. Umpan diberikan secara bertahap mulai dari debit 5 hingga 50 m^3/jam .

Parameter yang diukur dilapangan tidak selengkap di laboratorium karena keterbatasan industri yang bersangkutan. Oleh sebab itu pengukuran hanya meliputi debit gas yang dihasilkan, kandungan CH_4 , pH dan COD degradasi serta pengamatan pembentukan granul.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebagaimana diuraikan diatas, untuk mengetahui kinerja reaktor dilakukan dengan melihat pertumbuhan dan distribusi granul sebagai media tempat tumbuh bakteri.

3.1 Kinerja Proses Reaktor UASB

a. Preparasi catu

Setelah inokulasi selama 43 hari periode start up, reaktor dicatu dengan substrat tanpa pengenceran. Selama operasi *steady state* suplementasi nutrisi dapat dijaga dengan perbandingan komposisi COD : N : P adalah 600 : 5 : 1 dan pH tetap pada kisaran 7 – 7,2.

b. Pengaruh Kecepatan *upflow* terhadap produksi gas CH_4 dan Degradasi COD

Hasil pengamatan produksi biogas dan COD limbah terhadap kecepatan *up flow* dapat disampaikan sebagai berikut :

Pada kecepatan laju beban rendah, yaitu 0,03 m/jam yang dilakukan sampai hari ke 12, produksi gas hanya mencapai 100 – 150 m³/hari dengan kandungan CH_4 40 %. Setelah kecepatan dinaikan menjadi 0,06 m/jam produksi gas dapat mencapai 250 m³/hari dengan CH_4 60% dan hasil maksimum dicapai pada laju total tetap sama 0.12 m/jam yang menghasilkan gas CH_4 sekitar 320 m³/hari dengan CH_4 80%

Lebih lanjut, seperti dapat dilihat dalam Tabel-2 menunjukkan bahwa penambahan laju beban dapat meningkatkan degradasi kandungan COD dalam limbah.

Tabel 2. Pengukuran COD limbah.

Laju alir	Kandungan organik (COD)	
	ppm (In)	ppm (Out)
m/jam	ppm (In)	ppm (Out)
Inokulasi	—	---
0.03	7.460	6.870
0.06	7.000	6.430

Dari hasil pengamatan tersebut, tampak bahwa reaktor UASB telah menunjukkan kinerja yang cukup baik pada kondisi laju beban tinggi.

3.2. Pertumbuhan granul.

Hasil pengamatan secara fisik menggunakan imhof terhadap pertumbuhan granula dapat dilihat pada gambar 5 ~ gambar 9 berikut :

Pada pengamatan minggu pertama (Gambar 5) secara fisik tidak terlihat apa-apa dalam larutan, namun pada minggu kedua (Gambar 6) mulai nampak adanya benang-benang bakteri yang membentuk



Gambar 5. Kondisi pada minggu pertama



Gambar 6 Kondisi pada minggu kedua



Gambar 7. Pertumbuhan *Methanothrix*.

ikatan. Pada minggu ketiga (Gambar 7) benang-benang yang terbentuk mulai membentuk bola dan semakin banyak dalam larutan, dan berlanjut hingga minggu kedua dengan jumlah bola lebih kurang 2 – 3 CC/lt Imhof butiran mengendap (Gambar 8) sedangkan pada minggu ketiga dihasilkan 6 – 10 CC/lt Imhof (Gambar 9).

Hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa proses pembentukan granula telah berlangsung dalam reaktor UASB, namun karena kondisi limbah yang digunakan (limbah pabrik permen dan keripik) yang fluktuatif terutama pada proses pembuatan keripik yang kandungan



Gambar 8. Endapan minggu kedua.



Gambar 9. Endapan minggu ketiga.

lemaknya tinggi, mengakibatkan kerusakan pada proses pembentukan granula dan menghancurkan semua nuklei yang sudah terbentuk. Kondisi ini merusak pembentukan nuklei yang baru saja tumbuh dan terbangun bersama efluen karena melekat pada lemak.

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pertumbuhan nuklei granul dalam fermentasi anaerobik dengan menggunakan *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB) dapat ditumbuhkan dari mikro-organisme yang tumbuh dalam reaktor sesuai teori yang dikemukakan. Dengan adanya koloni mikro *methanithrix* yang saling berikatan membentuk bola dan demikian seterusnya membentuk granul.
2. Pemilihan tekanan fluida yang diaktualisasikan sebagai laju alir sangat berpengaruh pada pertumbuhan nuklei.

Dengan pola penekanan bertahap maka pertumbuhan koloni-koloni yang diharapkan menjadi media tumbuh bakteri pendegradasi dapat mengikuti kemampuan endap karena pertumbuhan fisiknya terhadap tekanan aliran yang diberikan. Pada kondisi normal secara bertahap nuklei yang terjadi tumbuh membesar seperti yang diinginkan. Permasalahan timbul karena kandungan minyak dalam limbah cair mendadak meningkat sehingga koloni-koloni tersebut terbawa keluar bersama aliran pembuangan.

3. Teknologi *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB) terlihat memiliki laju pembebanan reaktor UASB jauh lebih tinggi daripada umumnya laju pembebanan yang digunakan dalam proses-proses *activated sludge* konvensional.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lettinga G, Pette KC, de Vletter R, Wind E., 1977, *Anaerobic treatment of beet sugar wastewater on semi-technical scale. CSM-report*, The Netherlands: Amsterdam [in Dutch].
2. Hulshoff Pol LW., 1989, *The phenomenon of granulation of anaerobic sludge*, Ph. D.Thesis, Agricultural University Wageningen, The Netherlands.
3. Huser BA., 1981, *Methan bildung aus Acetat*, Ph. D.Thesis EAWAG, Zurich, Switzerland.
4. Boone DR, Kamagata Y., 1998, *Rejection of the species Methanothrix soehngenii VP and the genus Methanothrix VP as nomina confusa, and transfer of Methanothrix thermophila VP to the genus Methanosaeta VP as Methanosaeta thermophila comb. Nov.*, Request for an opinion. Int J Syst Bacteriol, (48) 1079–80.
5. Hulshoff Pol LW, De Zeeuw WJ, Velzeboer CTM, 1983, *Lettinga*

- G. Granulation in UASB reactors*, Water Sci Technol 15(8/9):291–304.
6. Hulshoff Pol LW, Heijnekamp K, 1987, *Lettinga G. The selection pressure as a driving force behind the granulation of anaerobic sludge*. In: Lettinga G, Zehnder AJB, Grotenhuis JTC, Hulshoff Pol LW, editors. Granular anaerobic sludge: microbiology and technology. The Netherlands: Pudoc.Wageningen; p.153–61.
 7. Pereboom JHF, 1994, *Size distribution model for methanogenic granules from full scale UASB and IC reactors*, Water Sci Technol, 30 (12) : 211–21.
 8. Dubourgier HC, Prensier G, Albagnac G., 1987, *Structure and microbial activities of granular anaerobic sludge*. In: Lettinga G, Zehnder AJB, Grotenhuis JTC, Hulshoff Pol LW, editors. Granular anaerobic sludge: microbiology and technology. The Netherlands: Pudoc Wageningen, p.18–33.
 9. Morgan JW, Evison LM, Forster CF., 1991, Internal architecture of anaerobic sludge granules. J Chem Technol Biotechnol, 50 : 211–26.
 10. Morgan JW, Evison LM, Forster CF., 1991, Upflow sludge blanket reactors: the effect of bio-supplements on performance and granulation. J Chem Technol Biotechnol , 52:243–55.
 11. De Zeeuw WJ., 1987, Granular sludge in UASB reactors. In: Lettinga G, Zehnder AJB, Grotenhuis JTC, Hulshoff Pol LW, editors. Granular anaerobic sludge: Microbiology and technology. The Netherlands: Pudoc.Wageningen; p.132–45.
 12. McLeod FA, Guiot SR, Costerton JW., 1990, Layered structure of bacterial aggregates produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor. Appl Environ Microbiol; 56(6):1598–607.
 13. Fang HHP., 2000, Microbial distribution in UASB granules and its resulting effects. Water Sci Technol ; 42(12):201–8.
 14. Ahn Y-H., 2000, Physicochemical and microbial aspects of anaerobic granular pellets. J Environ Sci Health; A35(9):1617–35.